

## ⑫ 公開特許公報(A) 平4-182479

⑤ Int. Cl.<sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

④ 公開 平成4年(1992)6月30日

C 07 D 311/62

6701-4C

6977-4B

A 23 L 1/03

※

審査請求 未請求 請求項の数 5 (全7頁)

⑭ 発明の名称 茶カテキン類の製造方法

⑯ 特 願 平2-311390

⑰ 出 願 平2(1990)11月19日

⑱ 発 明 者 良 辺 文 久 静岡県榛原郡相良町女神21 株式会社伊藤園研究所内  
 ⑱ 発 明 者 大 須 博 文 静岡県榛原郡相良町女神21 株式会社伊藤園研究所内  
 ⑱ 発 明 者 竹 尾 忠 一 静岡県榛原郡相良町女神21 株式会社伊藤園研究所内  
 ⑱ 発 明 者 田 中 明 神奈川県平塚市夕陽ヶ丘63番30号 住友重機械工業株式会社平塚研究所内

⑲ 出 願 人 食品産業ハイセバレー ションシステム技術研究組合 東京都中央区日本橋小伝馬町17番17号 峰澤ビル4階

⑳ 代 理 人 弁理士 池 澤 寛 最終頁に続く

## 明 細 書

## 1 発明の名称

茶カテキン類の製造方法

## 2 特許請求の範囲

(1) 茶葉から水溶性成分を抽出する第1の抽出工程と、

この水溶性成分を、合成吸着剤あるいはゲルろ過剤を充填したクロマトカラムに充填し、このクロマトカラムに成分を吸着させる吸着工程と、

こうした吸着成分を、メタノール、エタノールもしくはアセトンの1種、あるいはこれらの混合物からなる約40%~100%の水溶液によりそれぞれ溶出する溶出工程と、

こうした溶出液を酢酸エチル、メチルイソブチルケトンもしくはジエチルエーテルの1種、あるいはこれらの混合物に転溶したのち、有機成分を留去する第2の抽出工程とを有することを特徴とする茶カテキン類の製造方法。

(2) 茶葉から水溶性成分を抽出する第1の抽出工程と、

この抽出液を酢酸エチル、メチルイソブチルケトンもしくはジエチルエーテルの1種、あるいはこれらの混合物に転溶したのち、有機成分を留去する第2の抽出工程と、

この抽出成分を、合成吸着剤あるいはゲルろ過剤を充填したクロマトカラムに充填し、このクロマトカラムに成分を吸着させる吸着工程と、

こうした吸着成分を、メタノール、エタノールもしくはアセトンの1種、あるいはこれらの混合物からなる約40%~100%の水溶液によりそれぞれ溶出する溶出工程とを有することを特徴とする茶カテキン類の製造方法。

(3) 前記茶カテキン類が、エピカテキン、エピガロカテキン、エピカテキンガラート、およびエピガロカテキンガラートの4種を主成分とする混合物であることを特徴とする請求項(1)あるいは(2)記載の茶カテキンの製造方法。

(4) 前記合成吸着剤が、スチレン・ジビニルベ

ンゼン、あるいはメタアクリル酸エステルを母体とする吸着剤であることを特徴とする請求項 (1) あるいは (2) 記載の茶カテキンの製造方法。

(5) 前記ゲルろ過剤が、デキストラン誘導体あるいは親水性ビニルポリマーを母体とする吸着剤であることを特徴とする請求項 (1) あるいは (2) 記載の茶カテキンの製造方法。

### 3 発明の詳細な説明

#### [産業上の利用分野]

本発明は茶カテキン類の製造方法にかかわるもので、とくに茶葉を原料として高純度の茶カテキン類を低コストで製造可能な茶カテキン類の製造方法に関するものである。

#### [従来の技術]

茶葉中に多く含まれているカテキン類はポリフェノール化合物であり、フラバノールの一種である。茶葉に含まれる主なカテキンはエピカテキン、エピガロカテキン、ならびにこれらの没食子

酸エステルであるエピカテキンガレート、およびエピガロカテキンガレートの4種がある。これらの茶カテキン類には、抗酸化作用、抗菌作用、その他強力な生理活性作用があることが知られている。

こうした茶カテキン類を純度良く製造するには、共存するカフェインや茶色素、アミノ酸、糖類、ステロイド、カテキン酸化物等の夾雑物の分離が不可欠である。

従来、茶葉から茶カテキンを高純度で回収する技術として、液液抽出法を用いる方法が知られている。この方法は、茶葉から温水ないしは熱水などを用いて抽出した茶カテキン類を他の有機溶媒に転溶するものである。

たとえば、吉田(茶葉研究報告 第13号 4頁 1959年4月)はポリフェノール混合物の抽出操作として、緑茶を水で抽出し、クロロホルムで洗浄後、酢酸エチルにより抽出する方法を紹介している。

また特公平1-44234号では、同様の方

法により天然抗酸化剤を製造している。

また特開昭64-9922号では、茶抽出液をヘキサン、およびクロロホルムにより洗浄したのち、酢酸エチルにより目的物を抽出している。

これらの方法は茶カテキン類が親水性であるとともに、糖や遊離アミノ酸等とは異なっており、疎水性有機溶媒とも親和力が強いことを利用し、これら両方の溶媒を用いて茶カテキン類を選択的に抽出回収しようとするものであるが、抽出に多量の各種有機溶媒を必要とし、高純度の茶カテキン類を得るためには長時間を要するとともに、生産コスト上の問題がある。

一方、特開昭63-135484号に開示された参考例では、茶抽出液に対し水および大豆油を用いて液液抽出を行い、大豆油に脂溶性成分のみを溶解させてこれを除去した水相を回収し、目的とする茶カテキン類を得ている。この方法では、こうした回収成分に茶カテキン類とともに糖類およびアミノ酸類が多量に含まれているため、茶カテキン類の純度としては当然低いという問題があ

る。

本発明者らは、吸着剤を用いて茶カテキン類を選択的に吸着させ、有機溶媒を用いて溶離することにより高純度の茶カテキン類を回収する吸着分離技術を開発した(特開平1-175978号、特願平1-135463号)。これらの方法によれば、合成吸着剤を充填したクロマトカラムに茶抽出物を注入し、水および有機溶媒の濃度を変えて順次溶出することにより不純物をさきに除去し、残った茶カテキンを高濃度で回収することができ

るものである。

しかし、その後の研究の結果、こうした充填剤を用いて選択的に吸着する方法により製造した茶カテキン類には着色の原因となる褐色物質が含まれることが判明し、この褐色物質は茶カテキン類の酸化重合物であることが推定された。またこれらの褐色物質には、抗酸化力や他の生理活性作用がなく、茶カテキン類の純度をさらに向上するためにこれら褐色物質を除去する必要が生じた。

## 〔発明が解決しようとする課題〕

本発明は以上のような諸問題にかんがみてなされたもので、上述のような吸着分離方法による茶カテキン類からその酸化重合物を除去することにより、高純度で抗酸化能等の高い茶カテキン類を低コストで製造することができる茶カテキン類の製造方法を提供することを課題とする。

## 〔課題を解決するための手段〕

すなわち、第一の発明は、茶葉から水溶性成分を抽出する第1の抽出工程と、この水溶性成分を、合成吸着剤あるいはゲルろ過剤を充填したクロマトカラムに充填し、このクロマトカラムに成分を吸着させる吸着工程と、こうした吸着成分を、メタノール、エタノールもしくはアセトンの1種、あるいはこれらの混合物からなる約40%～100%の水溶液によりそれぞれ溶出する溶出工程と、こうした溶出液を酢酸エチル、メチルイソブチルケトンもしくはジエチルエーテルの1種、あるいはこれらの混合物に転溶したのち、有機成分を留

去する第2の抽出工程とを有することを特徴とする茶カテキン類の製造方法である。

また、有機溶媒に転溶する抽出工程と、クロマトカラムに通す吸着工程とを逆にすることもできる。

すなわち第二の発明は、茶葉から水溶性成分を抽出する第1の抽出工程と、この抽出液を酢酸エチル、メチルイソブチルケトンもしくはジエチルエーテルの1種、あるいはこれらの混合物に転溶したのち、有機成分を留去する第2の抽出工程と、この抽出成分を、合成吸着剤あるいはゲルろ過剤を充填したクロマトカラムに充填し、このクロマトカラムに成分を吸着させる吸着工程と、こうした吸着成分を、メタノール、エタノールもしくはアセトンの1種、あるいはこれらの混合物からなる約40%～100%の水溶液によりそれぞれ溶出する溶出工程とを有することを特徴とする茶カテキン類の製造方法である。

なお上記茶カテキン類は、エピカテキン、エピガロカテキン、エピカテキンガレート、および

エピガロカテキンガレートの4種を主成分とする混合物であることが望ましい。

また上記合成吸着剤は、スチレン・ジビニルベンゼン、あるいはメタアクリル酸エステルを母体とする吸着剤であることが望ましい。

さらに上記ゲルろ過剤は、デキストラン誘導体あるいは親水性ビニルポリマーを母体とする吸着剤であることが望ましい。

以下、本発明をより具体的に説明する。

第1図に、とくに第一の発明による茶カテキン類の製造方法の概略工程を示す。

本発明者らは、上記褐色物質等の着色物質を除去し、茶カテキン類の純度を従来の方法によるものよりさらに向上させて白色状回収物を得るために、従来の充填剤を用いる選択的吸着法と、液液抽出法とを組み合わせる方法を考案した。

すなわち、本発明の原料である茶は、生葉、不発酵茶、半発酵茶、および煎茶など各種形態のものが用いられるが、まず第1の抽出工程としてたとえば80℃以上の熱湯を用いて5分～10分

程度抽出することにより水溶性成分を得る。なお、メタノール等の含水有機溶媒を用いる場合、一般的には約60℃程度の低温で、より長時間の抽出操作を行う。

これらの水溶性成分ないしは茶抽出液を濃縮したのち、吸着剤を充填したクロマトカラムに注入し、この吸着剤に諸成分を吸着させる（吸着工程）。

上記吸着剤としては、合成吸着剤およびゲルろ過剤を採用することができる。合成吸着剤には、一般的な合成吸着樹脂たとえばHP-1MGおよびHP-2MG（三菱化成）、XAD-7およびXAD-8（オルガノ）などのメタアクリル酸エステル系や、S-761（デュオライト）などのスチレンジビニルベンゼン系の吸着剤がある。ゲルろ過剤には、デキストラン誘導体あるいは親水性ビニルポリマーを母体とする吸着剤などのゲルろ過用の樹脂たとえばセファデックスLH-20（ファルマシア）や、トヨパールHW-40（東ソー）などがある。

なお、上述の注入によりクロマトカラムからは水相として、糖、金属、蛋白などを分離する。

つぎに上記クロマトカラムに残留した成分を、親水性有機溶媒たとえばメタノール、エタノールもしくはアセトンの1種、あるいはこれらの混合物からなる約40%~80%の濃度の溶離剤を用いて溶出する(溶出工程)。

溶出用の溶媒は、上記親水性有機溶媒が適しているが、茶カテキン類を溶離するため、40%~80%の濃度が有効である。40%以下の場合には溶出が遅れ、また80%以上の場合には濃度向上の効果は得られず、いずれの場合にも不経済である。60%前後が望ましい。

茶カテキン類を溶出した溶媒は一度これを濃縮し、有機溶媒を除いたのち、次工程(第2の抽出工程)に供する。なお有機溶媒を除かない場合には、次工程の抽出効率が低下するとともに、次工程において使用する溶媒量が多くなり不経済である。

かくして溶媒を除去した液から抽出成分を有

機溶媒に転溶させる(第2の抽出工程)。

なお有機溶媒としては、水への溶解量が小さいこと、溶媒除去の必要性から沸点がそれほど高くないこと、さらに茶カテキン類はある程度溶解するが前記褐色物質は全く溶解しないことが望まれる。こうした要請を満す溶媒に該当するものとして、酢酸エチル、メチルイソブチルケトン、あるいはジエチルエーテルなどが好適であり、とくに酢酸エチルが望ましい。

一方、ジエチルエーテル以外のエーテル類たとえばイソプロピルエーテルや、ベンゼン、クロロホルム、石油エーテルおよびヘキサン等は茶カテキン類の溶解度が低く、またn-ブタノール等のアルコール類は褐色物質も溶解するために不適当である。

こうした第2の抽出工程により、水相に茶カテキン類の酸化重合物を溶解し、有機溶媒中に茶カテキン類を転溶することによって両者を分離する。

一般には、茶カテキン類を転溶させた有機溶

媒は減圧下でこれを留去し、ついで凍結乾燥あるいは噴霧乾燥により茶カテキン類を粉末化し、これを各種製品形態に加工する。

以上のように、充填剤を用いる選択的吸着法と、液液抽出法を連続して行う二段処理法を採用することにより、高純度の茶カテキン類の製造が可能となった。

#### 【作用】

本発明による茶カテキン類の製造方法においては、茶の抽出液をカラムクロマトグラフィーで処理することにより茶カテキン類を吸着分離し、つぎの工程で液液抽出分離することとしたので、従来分離不可能であった褐色物質を分離可能となるとともに、多量の有機溶媒を必要とせず、高純度の茶カテキン類を低コストで製造することができる。

#### 【実施例】

つぎに本発明の実施例を説明する。

#### (実施例1)

煎茶1Kgを熱水10リットルにより10分間抽出し、圧搾後、減圧濃縮および遠心分離を行い茶抽出液2リットルを製造した。

この茶抽出液を、メタアクリル酸エステルを母体とした合成吸着剤(三菱化成製ダイアイオンHP-2MG)約700ミリリットル充填したクロマトカラムに全量注入ののち、70%エタノール1.7リットルで溶離した。

この液を高速液体クロマトグラフィーにより分析する。高速液体クロマトグラフィーの分析条件は以下の通りである。すなわち、

クロマトカラム: カプセルパックC18

(資生堂)

4.6mm径×250mm長

溶出用溶離液:

溶離液A: メタノール/水/リン酸  
(22%/78%/0.1%)

溶離液B: メタノール100%

グラジエント:

0~15分 B液 0%  
 15~35分 B液 0→20%  
 35~50分 B液 20→100%

(当初溶離液Aで溶出し、試料注入後15~35分の間に溶離液を0~20%とし、35~55分の間に20~100%にそれぞれリニアに上昇させる二段階グラジエント法)

流量: 1ミリリットル/分

試料量: 5マイクロリットル

検出器: 紫外線吸光度計

波長 0~22分 UV280nm

22~50分 UV350nm

である。

上記高速液体クロマトグラフィーによる分析結果を第2図に示す。図示のように、茶カテキン類(1、2、4、5の4種)の純度約68%が得られた。この抽出物を含む溶離液を減圧濃縮し、エタノールを除去し、約500ミリリットルを回収した。

この液を同種の酢酸エチルで3回処理し、酢

うに、カラム分画品に比較して、精製品の抗酸化作用が強力であることがわかる。

#### (比較例1)

本発明と対比するために、従来公知の方法による抽出を行った。

実施例1と同様な茶抽出物1.5リットルを同量のクロロホルムで洗浄後、1.5リットルの酢酸エチルで3回(合計4.5リットル)処理して抽出成分を転溶した。

酢酸エチル層を合わせて減圧濃縮で溶媒を留去のち、凍結乾燥により茶カテキン類104gが製造された。茶カテキン類の純度は75%であった。本発明の方法が、溶媒使用量および純度ともに優れていた。

#### (実施例2)

実施例1と同様の方法で実施した。ただし、精製用の有機溶媒を酢酸エチルのかわりにメチルイソブチルケトンおよびジエチルエーテルのそれ

酢酸エチル層を合わせて減圧濃縮のち常法にしたがつて凍結乾燥して白色固形物約80gを得た。

この粉末を高速液体クロマトグラフィーで分析すると、第3図に示すように褐色物質に由来するピークが消失し、茶カテキン類の純度は約85%であった。

#### (応用例)

実施例1の方法で得られたカラム分画のちの茶カテキン類と酢酸エチル精製後の茶カテキン類について、それぞれ少量をエタノールで溶解し、リノール酸に添加することにより抗酸化能を調べた。この抗酸化能の測定は過酸化価値(POV)により判定した。

すなわち、無添加のものと、それぞれ100ppm添加したのものを10ミリリットルずつ100ミリリットルビーカーに取り、40℃の恒温室に放置し、常法にしたがいヨードデンプン反応により過酸化価値(POV)を測定した。

第4図はこの抗酸化能曲線を示す。図示のよ

ぞれを用いた。

その結果、茶カテキン類の回収量はそれぞれ75g、65gであり、また純度はそれぞれ83%、79%であった。

#### (実施例3)

実施例1と同様の方法で実施した。ただし、カラム充填剤として、LH-20(セファデックス)、HW-40(トヨパール)、およびS-761(デュオライト)を用いた。

実施例1の結果と合わせて第5図の表にその結果を示す。S-761を除いて樹脂による性能の相違は本条件ではあまりなかった。

#### (実施例4)

実施例1と同様の方法により茶抽出液2リットルを製造し、この茶抽出液を同量の酢酸エチルで3回抽出した。

酢酸エチル層約6リットルを合わせて減圧濃縮して酢酸エチルを留去し、固形物約120gを

得た。これに水を加えて溶解させ、500ミリリットルとし、実施例1と同じ合成吸着剤(HP-2MG)約175ミリリットルを充填したクロマトカラムに全量注入したのち、70%エタノール450ミリリットルで溶離した。

この液を実施例1と同様に凍結乾燥して白色固形物約80gを得た。

したがって、製造法の手順を変更すると、つまり茶葉から抽出した水溶性成分をまず有機溶媒に転溶し、この有機溶媒を除去後、再度水に溶解し、クロマトカラムに通すという工程を取ると、転溶のための有機溶媒量は多量に使用するが、吸着剤の量はすくなくすみ、その負荷量を上げることができるという効果がある。

なお、得られた製品の量および純度は実施例1で実施した結果と同じである。

#### 【発明の効果】

以上のように本発明によれば、クロマトカラム吸着分離工程および液液抽出工程の二段処理に

より、高い抗酸化能その他有用な生理活性機能を有する茶カテキン類を従来にない高純度で安価に製造することが可能となった。

#### 4 図面の簡単な説明

第1図は本発明による茶カテキン類の精製方法の工程の概略を示す説明図。

第2図は吸着分離によるクロマトグラムを示す説明図。

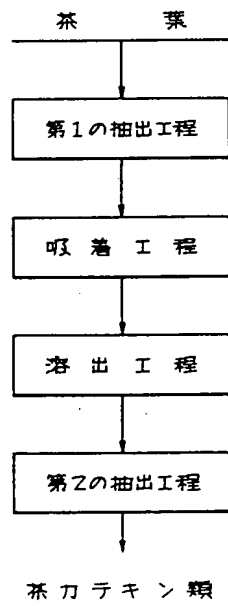
第3図は吸着分離ののち液液抽出によるクロマトグラムの説明図。

第4図は本発明の方法により製造された茶カテキン類のリノール酸に対する抗酸化能を示すグラフ。

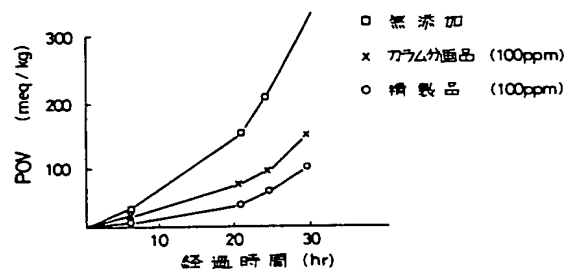
第5図は茶カテキン類回収量および純度を示す表である。

特許出願人 食品産業ハイセレーション  
システム技術研究組合  
代理人 弁理士 池澤 寛

第 1 図



第 4 図

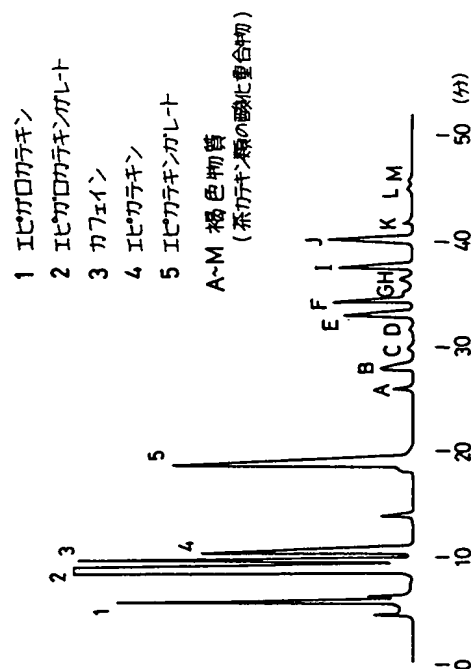


第 5 図

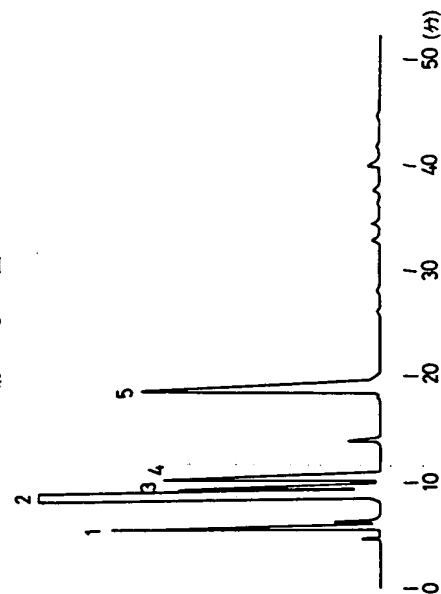
茶カテキン類の回収量および純度

	HP2MG	LH20	HW40	S761
回収量 (gr)	80	85	82	62
純度 (%)	85	87	87	76

第 2 図



第 3 図



第 1 頁の続き

⑤Int. Cl.<sup>5</sup>  
// A 23 L 1/03  
3/3472  
C 09 K 15/06  
15/08  
15/34

識別記号

庁内整理番号

6977-4B  
6977-4B  
6917-4H  
6917-4H  
6917-4H

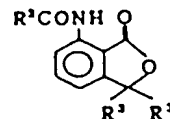
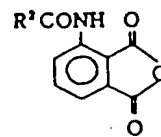
②発 明 者 末 広 文 一 神奈川県平塚市夕陽ヶ丘63番30号 住友重機械工業株式会  
社平塚研究所内  
②発 明 者 柴 田 憲 司 神奈川県平塚市夕陽ヶ丘63番30号 住友重機械工業株式会  
社平塚研究所内

**(54) PRODUCTION OF SUBSTITUTED 2-OXA-7-AMINOINDANE DERIVATIVE**

(11) 4-182477 (A) (43) 30.6.1992 (19) JP  
 (21) Appl. No. 2-311767 (22) 16.11.1990  
 (71) SUMITOMO CHEM CO LTD (72) NOBUYOSHI MIYATA(4)  
 (51) Int. Cl.<sup>5</sup> C07D307/88

**PURPOSE:** To industrially obtain the title compound useful as an intermediate of germicide for agriculture and horticulture in good efficiency by reacting a carboxylic acid derivative with a lower alkyl Grignard reagent.

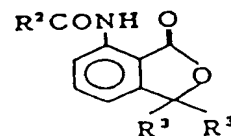
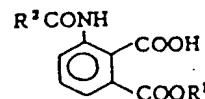
**CONSTITUTION:** A carboxylic acid derivative expressed by formula I ( $R^2$  is lower alkyl) is reacted with a lower alkyl Grignard reagent to provide the objective substituted-2-oxa-7-aminoindane expressed by formula II ( $R^3$  is lower alkyl). The above-mentioned reaction is normally carried out by using the lower alkyl Grignard reagent such as a trialkylaluminum or alkylmagnesium halide at an amount about 3-10 times, preferably about 3-5 times (by mol) as much as that of the carboxylic acid derivative expressed by formula I in a solvent such as THF, toluene or dichloromethane.

**(54) PRODUCTION OF SUBSTITUTED 2-OXA-7-AMINOINDANE DERIVATIVE**

(11) 4-182478 (A) (43) 30.6.1992 (19) JP  
 (21) Appl. No. 2-311768 (22) 16.11.1990  
 (71) SUMITOMO CHEM CO LTD (72) ATSUSHI KAETSU(4)  
 (51) Int. Cl.<sup>5</sup> C07D307/88

**PURPOSE:** To obtain the title compound useful as an intermediate for producing a germicide for agriculture and horticulture industrially in good efficiency by reacting an anilide derivative with a lower alkyl Grignard reagent.

**CONSTITUTION:** An anilide derivative expressed by formula I ( $R^1$  and  $R^2$  are lower alkyl) is reacted with a lower alkyl Grignard reagent (e.g. alkylmagnesium halide or alkyl lithium) to provide the substituted-2-oxa-7-aminoindane derivative expressed by formula II ( $R^3$  is lower alkyl). The reaction is normally carried out using the lower alkyl Grignard reagent at an amount about 3-10 times (by mol), preferably about 4-6 times (by mol) as much as that of the compound expressed by formula I.

**(54) PRODUCTION OF TEA CATECHINS**

(11) 4-182479 (A) (43) 30.6.1992 (19) JP  
 (21) Appl. No. 2-311390 (22) 19.11.1990  
 (71) SHIYOKUHIN SANGIYOU HAI SEPAEESHIYON SHISUTEMU GIJIYUTSU KENKIYUU KUMIAI  
 (72) FUMIHISA YOSHIBE(5)  
 (51) Int. Cl.<sup>5</sup> C07D311/62//A23L1/03,A23L3/3472,C09K15/06,C09K15/08,C09K15/34

**PURPOSE:** To obtain high-purity tea catechins at a low cost by extracting a water soluble ingredient from tea leaf, passing the ingredient through a chromatographic column in which a synthetic absorbent is packed and then eluting the adsorbed ingredient and dissolving the eluted ingredient in other solvent and distilling the organic solvent.

**CONSTITUTION:** For example, tea leaf is subjected to extraction treatment using a hot water heated to  $\geq 80^\circ\text{C}$  to provide a water soluble ingredient. Then the ingredient is passed through a chromatographic column in which an absorbent composed mainly of styrene, divinylbenzene, etc., or gel filtrating agent composed mainly of dextran derivative, etc., is packed to make the ingredient adsorbed into the chromatographic column. Then the adsorbed ingredient is eluted by 40-100% aqueous solution consisting of one kind of methanol, ethanol or acetone or mixture thereof and the eluted liquid is dissolved in one kind of ethyl acetate, methylisobutyl ketone or diethyl ether or mixture thereof and the organic solvent is distilled to provide the objective tea catechins (consisting of epicatechin, epigallocatechin and epicatechingallate).